

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 号		
所属	保健学専攻 医療生命科学分野 医療生命科学領域	氏名	堀 敦詞
学位論文題目	Characterization of galactosyl and lactosyl sulfatide species in human serum by MALDI-TOF mass spectrometry		
論文審査担当者	主査 矢崎正英 副査 松田和之、日高宏哉		
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>硫酸化糖脂質の中でも、スフィンゴイド塩基と脂肪酸側鎖からなるセラミドに糖鎖と硫酸基が結合したスルファチドは、脳ミエリン鞘の主要構成脂質であり、脳・神経系細胞の他に、腎臓の尿細管細胞、消化上皮細胞、血液中リポ蛋白質など幅広く分布する脂質である。スルファチドはミエリン機能の他に、細胞表面抗原（血液型抗原など）、細菌やウイルス毒素の受容体、細胞表面から核への情報伝達過程など、重要な生理機能を有している。また、卵巣癌、肺癌などの組織への沈着や、ライソゾーム内に蓄積するスフィンゴリピドーシスである異染性白質ジストロフィー、アルツハイマー病への関与など、様々な疾患との関連が報告されている。</p> <p>これまで、血液中スルファチドの定量は行われてきたが、スルファチドは様々な脂肪酸側鎖からなる分子であるため、その脂肪酸側鎖の違いによる分子種の測定が、生理機能機序や疾患との関連を明らかにする上で重要である。研究的には液体クロマトグラフィー質量分析(LC MS)や薄層クロマトグラフィーを利用した質量分析などが実施されているが、いずれも操作が煩雑であり、スルファチド分析の臨床的応用ができていない。</p> <p>本研究では、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析(MALDI-TOF MS)の負イオンモード分析により、血清中スルファチド分子種の簡易分析法と高感度分析法の開発をされた。簡易分析法では、血清25μLと内部標準品で、15種のガラクトシルスルファチド(SM4s)分子種を迅速にかつ定量的に測定された。さらに、血清500μLの脂質分解酵素(PLA₂)による前処理後、Phenyl Sepharose 疎水性相互作用クロマトグラフィーミニカラムにより部分精製し、MALDI-TOF/TOF MS (MS/MS)により、2種類の糖鎖、8種類のスフィンゴイド塩基、ヒドロキシ脂肪酸を含む多種類の脂肪酸側鎖をもつ分子種、合計64種類の SM4s 分子種と49種類のラクトシルスルファチド(SM3)分子種が同定された。SM4s 分子種は定量的に測定され、測定精度、直線性は良好であり、SM3のピーク強度は SM4s の1%以下であった。健常者血清(大学生、女性、n=8)の SM4s を構成する脂肪酸は C16:0やヒドロキシル化 C16:0 (C16:0h) が優位であり、次いで極長鎖脂肪酸が優位であつ。一方、SM3は極長鎖脂肪酸が最も優位であったことから、SM4s 分子種と SM3分子種の脂肪酸組成の違いを明らかにした。</p> <p>本研究により、MALDI-TOF MS, MALDI-TOF/TOF MS を用いた臨床検査へ応用できるヒト血清スルファチド分析法が開発された。本法は、スルファチド代謝機能や代謝異常を解析し、代謝異常症の検索に有用なツールとなる。また現在、臨床分野との共同研究が進められており、SM4s 分子種と SM3分子種プロファイルの変化を捉えることが、疾患マーカーになる可能性を示しており、スルファチド臨床研究への寄与が期待される。</p> <p>学位審査において、わかりやすいスライドで発表され、学位論文を補足する解説や結果を提示された。質疑応答も的確に答えており、主査、副査は一致して本論文を学位論文として価値があるものと認めた。</p>			